

No English title available.

Patent Number: DE19754000

Publication date: 1999-06-17

Inventor(s): AROLD CARSTEN (DE); KALKUM MARKUS (DE); EICKHOFF HOLGER (DE);
KIETZMANN MARKUS (DE); PRZEWIESLIK THOMAS (DE)

Applicant(s): MAX PLANCK GESELLSCHAFT (DE)

Requested
Patent: ☐ DE19754000Application
Number: DE19971054000 19971205Priority Number
(s): DE19971054000 19971205IPC
Classification: B05B1/14; B01L3/02; C12N15/11; C07H21/04EC
Classification: B01L3/02D, G01N35/10Equivalents: ☐ EP1036336 (WO9930168), ☐ WO9930168

Abstract

A multi-channel dispenser head (10) with a plurality of micro pipettes (20) which are respectively provided with an electrically actuated trigger device (21) with a frame earth terminal and a signal terminal (22,23), whereby said micro pipettes (20) are mounted as a two-dimensional arrangement on a common carrier (30) which is provided with a location (32) having a frame earth contact and signal contact (34,35) for each micro pipette. The frame earth and signal contacts are arranged on the carrier in an interspaced manner in relation to the axial extension of each micro pipette.

Data supplied from the esp@cenet database - l2

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 197 54 000 A 1

51 Int. Cl.⁶:
B 05 B 1/14
B 01 L 3/02
// C12N 15/11, C07H
21/04

21 Aktenzeichen: 197 54 000.7
22 Anmeldetag: 5. 12. 97
43 Offenlegungstag: 17. 6. 99

DE 197 54 000 A 1

71 Anmelder:
Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der
Wissenschaften e.V., 80539 München, DE
74 Vertreter:
v. Bezold & Sozien, 80333 München

72 Erfinder:
Kietzmann, Markus, 12279 Berlin, DE; Kalkum,
Markus, 10967 Berlin, DE; Przewieslik, Thomas,
12167 Berlin, DE; Eickhoff, Holger, 14195 Berlin, DE;
Arold, Carsten, 10117 Berlin, DE

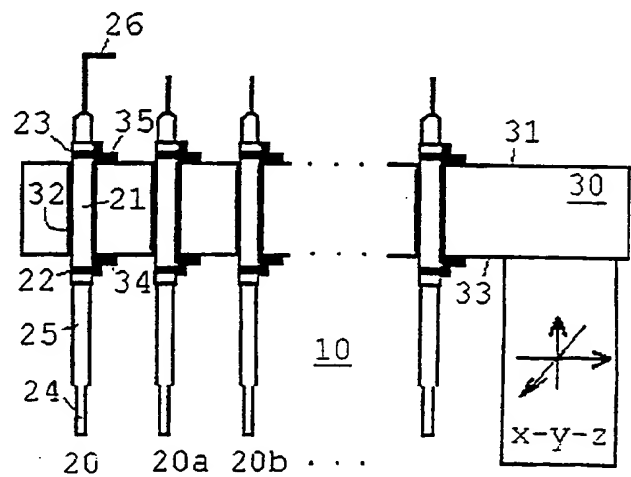
56 Entgegenhaltungen:
DE 30 07 189 C2

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Vorrichtung und Verfahren zur elektrisch ausgelösten Mikrotropfenabgabe mit einem Dispensierkopf

57 Bei einem Mehrkanal-Dispensierkopf (10) mit einer Vielzahl von Mikropipetten (20), die jeweils eine elektrisch betätigbare Auslöseeinrichtung (21) mit einem Masse- und einem Signalanschluß (22, 23) aufweisen, sind die Mikropipetten (20) als zweidimensionale Anordnung auf einem gemeinsamen Träger (30) angebracht, der für jede Mikropipette (20) eine Aufnahme (32) mit einem Masse- und einem Signalkontakt (34, 35) aufweist, wobei die Masse- und Signalkontakte am Träger voneinander beabstandet angeordnet sind.



BEST AVAILABLE COPY

DE 197 54 000 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft einen Dispensierkopf, der zur zeitlich gesteuerten, elektrisch ausgelösten Abgabe von Mikrotropfen eingerichtet ist, insbesondere einen Mehrkanaldispensierkopf mit separat ansteuerbaren Mikropipetten, und ein Verfahren zur Verwendung eines derartigen Dispensierkopfes.

Dispensierköpfe oder -module werden verbreitet für biotechnologische oder chemisch-technologische Aufgaben eingesetzt, um kontrolliert kleine Flüssigkeitsvolumina in Form von Mikrotropfen abzugeben. Ein Beispiel hierfür ist die Herstellung von miniaturisierten DNS-Arrays für gentechnische Anwendungen, wobei durch eine geringe Tropfengröße eine hohe Klondichte erzielt wird, wofür piezoelektrisch betätigte Mikropipetten besonders gut geeignet sind. DNS-Klone, Mikroorganismen, Zellen, Zellbestandteile oder Biomoleküle werden üblicherweise als Wirksubstanzen in Mikrotiterplatten mit einer Vielzahl von Vertiefungen (beispielsweise 96 oder 384) gelagert. Damit Arrays aus beispielsweise zehntausenden verschiedener DNS-Sequenzen (sogenannte DNS-Chips) schnell hergestellt werden können, sind Dispensiermodule erforderlich, die hochparallel oder mit einer hinreichenden seriellen Geschwindigkeit Flüssigkeiten aus Mikrotiterplatten für kombinatorische Zwecke auf Substratoberflächen übertragen können.

Es ist allgemein bekannt, daß als Dispensiersysteme Einkanal-Dispensierköpfe oder Mehrkanal-Dispensierköpfe in Form einer linearen Reihenanordnung aus Mikropipetten eingesetzt werden.

Diese herkömmlichen Dispensiersysteme besitzen die folgenden Nachteile.

Die Verwendung eines Einkanal-Dispensierkopfes mit einer einzelnen Mikropipette bedeutet, daß die zu kombinierenden Substanzen seriell von einem Reservoir (z. B. Mikrotiterplatte) zu einem Reaktionssubstrat befördert werden müssen, wobei bei jedem Substanzwechsel ein Reinigungsschritt erforderlich ist. Diese Verfahrensweise ist wegen des Zeitaufwandes für praktische Anwendungen der kombinatorischen Biotechnologie oder Chemie unakzeptabel.

Mehrkanal-Dispensierköpfe, die im wesentlichen aus einer Reihe von beispielsweise 8 bis 16 Einkanal-Dispensierköpfen bestehen, erlauben zwar durch den parallelen Betrieb der einzelnen Mikropipetten eine Verringerung des Zeitaufwandes, erfordern jedoch bisher aufwendige Halterungs- und Steueranordnungen. Da jede einzelne Mikropipette mit zwei Steuerleitungen zur Betätigung des Piezoelements und mit einer Flüssigkeitsleitung zum Anlegen eines Spül- oder Beschickungsdruckes ausgestattet ist, stellen herkömmliche Mehrkanal-Dispensierköpfe komplexe und schwerfällige Anordnungen dar. So wäre beispielsweise bei einem Dispensierkopf mit einer Reihe von 8 elektrisch betätigten Mikropipetten die Anbringung von insgesamt 16 Steuerleitungen und 8 Druckleitungen erforderlich, die mit entsprechenden einzelnen Steuer- und Druckeinrichtungen verbunden sind. Soll ein derartiger Mehrkanal-Dispensierkopf beispielsweise mit einer x-y-z-Stelleinrichtung über einem Substrat verfahren werden, so stellt der komplexe Aufbau des Dispensierkopfes wegen des Gewichts und der erforderlichen Mitführung einer Vielzahl von Einzeleinrichtungen einen entscheidenden Nachteil für die Genauigkeit der Dispensierkopfpositionierung dar. Bei ungenauer Mikrotropfenplatzierung wird jedoch die Effektivität der herkömmlichen Dispensiersysteme in unakzeptabler Weise eingeschränkt. Ein weiterer Nachteil besteht in der verhältnismäßig hohen Störanfälligkeit der reihenweise angeordneten Einkanal-Mikropipetten. Schließlich benötigt jeder der reihenweise angeordneten Einkanal-Dispensierköpfe so viel Platz, daß die

Mikropipetten-Spitzen größere Abstände als die üblichen Rastermaße von Mikrotiterplatten haben. Damit wird eine Substanzaufnahme von Mikrotiterplatten ineffektiv.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, einen verbesserten Mehrkanal-Dispensierkopf zu schaffen, der sich insbesondere durch einen vereinfachten Aufbau, eine vereinfachte Ansteuerbarkeit, verkürzte Reaktionszeit und erhöhte Positionierungsgenauigkeit auszeichnet. Die Aufgabe der Erfindung ist es ferner, verbesserte Einsatzmöglichkeiten eines derartigen Dispensierkopfes anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch einen Mehrkanal-Dispensierkopf mit den Merkmalen gemäß Patentanspruch 1 bzw. durch eine Verfahrensweise mit den Merkmalen gemäß Patentanspruch 12 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Die Grundidee der Erfindung besteht in der Schaffung eines Mehrkanal-Dispensierkopfes, bei dem Mikropipetten jeweils mit einer elektrisch betätigbaren Auslöseinrichtung, die einen Masse- und einen Signalanschluß besitzt, zweidimensional oder flächig auf einem gemeinsamen Träger angeordnet sind, der für jeden Masse- oder Signalanschluß jeweils entsprechend einen Masse- oder einen Signalkontakt aufweist, wobei die Masse- und Signalkontakte am Träger in zwei voneinander beabstandeten und elektrisch isolierten Ebenen angeordnet sind. Diese Gestaltung ermöglicht einen wesentlich vereinfachten Aufbau mit einer verdichteten Mikropipettenanordnung.

Die Erfindung kann mit allen Formen von Mikropipetten realisiert werden, die mit einer elektrisch betätigbaren Auslöseinrichtung ausgerüstet und zur Mikrotropfenabgabe nach Auslösung eines Druckpulses im Volumen der Mikropipette eingerichtet sind. Die Auslöseinrichtung kann eine Piezoeinrichtung, eine Ventilanordnung (in Kombination mit einer Druckleitung) oder jede entsprechende elektrische Druckvorrichtung sein. Die zweidimensionale oder flächige Anordnung von Mikropipetten auf einem gemeinsamen Träger kann jede regelmäßige oder unregelmäßige Anordnung umfassen. Es wird jedoch eine regelmäßige Anordnung mit geraden oder konzentrisch kreisförmigen Reihen bevorzugt. Bei einer rechtwinkligen Matrixanordnung bilden die Mikropipetten rechtwinklig zueinander ausgerichtete Reihen und Spalten. Bei einer schiefwinkligen Matrixanordnung bilden die Mikropipetten gerade Reihen und Spalten, die schräg zueinander ausgerichtet sind. Bei einer kreisförmigen Anordnung bilden die Mikropipetten konzentrische Kreise. Im letzteren Fall werden die im folgenden genannten Reihen und Spalten durch radial angeordnete (gerade) Mikropipettenreihen und kreisförmige Mikropipettenreihen gebildet.

Gemäß einer Ausführungsform besteht der Dispensierkopf gemäß der Erfindung aus einer oder mehreren Mikropipettenreihen auf einem gemeinsamen Träger, wobei die Massekontakte jeder Reihe elektrisch miteinander verbunden sind und die Signalkontakte mit einer Signal-Multiplexschaltung einzeln ansteuerbar sind. Gemäß einer weiteren Gestaltung besteht der Dispensierkopf gemäß der Erfindung aus einer Mehrzahl von Mikropipettenreihen derart, daß die Mikropipetten zweidimensional matrixartig spalten- und reihenweise angeordnet sind. Bei dieser Ausführungsform sind die Massekontakte jeder Reihe elektrisch verbunden, wobei eine Masse-Multiplexschaltung vorgesehen ist, mit der die gemeinsamen Massekontakte der einzelnen Mikropipettenreihen einzeln ansteuerbar sind. Außerdem sind die Signalkontakte jeder Mikropipettenspalte elektrisch miteinander verbunden, wobei in diesem Fall die Signal-Multiplexschaltung dazu vorgesehen ist, daß die gemeinsamen Signalkontakte der Mikropipettenspalten einzeln ansteuerbar sind.

Durch die Multiplex-Technik wird ermöglicht, daß durch Anlegen des Masse- bzw. Signalpotentials an eine der Reihen bzw. Spalten genau eine Auslöseeinrichtung einer Mikropipette betätigt wird, deren Position der ausgewählten Reihe bzw. Spalte entspricht.

Gemäß einer vorteilhaften Gestaltung der Mikropipetten ist jede Mikropipette über eine Druckleitung mit einer ebenfalls am Träger angebrachten Verteilereinrichtung verbunden, über die ein Beschickungs- oder Reinigungsdruck auf die Mikropipetten gegeben werden kann. Die Verteilereinrichtung ist entweder eine Mehrventilanordnung oder ein ventilfreies Verzweigungsstück.

Die Mikropipetten weisen ein Ladevolumen zur Aufnahme der mikrotropfenweise abzugebenden Wirksubstanz und ein Trägervolumen zur Aufnahme einer Trägerflüssigkeit auf. Gemäß einem bevorzugten Verfahren der Erfindung wird der Dispensierkopf derart beschickt, daß zunächst eine Trägerflüssigkeit simultan in alle Trägervolumen der Mikropipetten aufgenommen wird. Anschließend werden an einer Wirksubstanzreservoiranordnung, die eine Vielzahl von Reservoirs enthält, die jeweils entsprechend der Mikropipettenanordnung am Dispensierkopf ausgerichtet sind, an jeder Mikropipette spezifisch Wirksubstanzen aufgenommen. Die Auslöseeinrichtung ist jeweils im Bereich des Trägervolumens angebracht, so daß die mikrotropfenweise Abgabe durch Betätigung der Auslöseeinrichtungen und Vermittlung des Druckpulses über die Trägerflüssigkeit auf die jeweilige Wirksubstanz erfolgt.

Die Erfindung besitzt die folgenden Vorteile. Der erfindungsgemäße Mehrkanal-Dispensierkopf besitzt einen wesentlich vereinfachten Aufbau, der je nach konkreter Mikropipettenanordnung durch Einsatz der Multiplex-Technik auch eine Vereinfachung der Mikropipettenansteuerung erlaubt. Diese betrifft sowohl die Zahl der zum Dispensierkopf führenden Masse- und Signalleitungen, die unabhängig von der Zahl der Mikropipetten auf zwei Leitungen reduziert sind, als auch den Umfang der zur Ansteuerung der Mikropipetten erforderlichen Steuerelektronik. Außerdem ist der vereinfachte Aufbau leichter manipulierbar und somit genauer positionierbar. Schließlich erlaubt die Anordnung von Mikropipetten auf einem gemeinsamen Träger eine Verringerung des Mikropipettenabstandes, so daß entsprechend Wirksubstanzen von Mikrotiterplatten mit geringem Abstand der einzelnen Mikrotitervolumina aufgenommen werden können. Die Zahl der parallel bearbeiteten Substanzen erhöht sich, so daß eine entsprechende Zeitersparung erzielt wird. Der Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß der Erfindung erlaubt erstmalig eine vollautomatische und reproduzierbare Steuerung der Dispensierkopfpositionierung und der Mikrotropfen-Abgabezeiten nach vorgegebenen Programmustern, beispielsweise unter Einsatz eines Steuerrechners.

Weitere Vorteile und Einzelheiten der Erfindung werden aus der folgenden Beschreibung der beigefügten Zeichnungen ersichtlich. Es zeigen:

Fig. 1: eine schematische Teil-Schnittansicht eines erfindungsgemäßen Mehrkanal-Dispensierkopfs;

Fig. 2: die Kontaktgestaltung für einen Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einer ersten Ausführungsform der Erfindung, bei dem eine Mikropipettenreihe vorgesehen ist;

Fig. 3: eine schematische Perspektivansicht eines Trägers eines Dispensierkopfs gemäß einer zweiten Ausführungsform der Erfindung, bei dem eine Mikropipettenmatrix vorgesehen ist;

Fig. 4: eine Illustration zur Befestigung einer Mikropipette an einem Dispensierkopf;

Fig. 5: eine Übersichtsdarstellung der elektrischen Ansteuerung eines Mehrkanal-Dispensierkopfs gemäß der Erfindung;

Fig. 6: ein Schaltbild einer Hochspannungs-Versorgungseinrichtung;

Fig. 7: ein Schaltbild einer Multiplex-Anordnung;

Fig. 8: ein Schaltbild zum Zusammenwirken der Hochspannungs-Versorgungseinrichtung mit den Multiplex-Anordnungen; und

Fig. 9: eine schematische Übersichtsdarstellung zur Erläuterung des Einsatzes eines Mehrkanal-Dispensierkopfes gemäß der Erfindung.

Die Erfindung wird im folgenden unter Bezug auf einen Dispensierkopf mit piezoelektrisch betätigbaren Mikropipetten beschrieben, die zur vertikalen Abgabe von Mikrotropfen im sub- μ l-Bereich auf Substrate eingerichtet sind. Die Erfindung ist jedoch nicht auf diese Anwendung beschränkt, sondern allgemein bei allen Mikropartikelplatzierungseinrichtungen mit allen Arten von Auslöseeinrichtungen anwendbar, bei denen elektrisch betätigte Dispenser reihen- oder matrixartig angeordnet sind und die einzelnen Auslöseeinrichtungen jedes Dispensers separat betätigbar sein sollen. Die Erfindung ist ferner nicht auf ein bestimmtes, im folgenden beispielhaft angeführtes Format der Mikropipettenanordnung beschränkt, sondern auf beliebige Reihengrößen oder Matrix-Größen, zur vertikalen oder horizontalen Mikrotropfen- oder partikelabgabe anwendbar. Die Erfindung ist mit beliebigen oder kommerziell verfügbaren, elektrisch betätigbaren Mikropipetten implementierbar, so daß im folgenden Einzelheiten der Mikropipetten nicht beschrieben werden.

Fig. 1 zeigt schematisch eine Schnittteilansicht eines erfindungsgemäßen Dispensierkopfs 10 mit einer Gruppe von Mikropipetten 20 (20a, 20b, ...), die an einem gemeinsamen Träger 30 angebracht sind, der mit einer x-y-z-Stelleinrichtung verstellbar ist. Jede Mikropipette 20 besitzt als Auslöseeinrichtung ein Piezoelement 21 mit zwei Steueranschlüssen, die einen Masse-Anschluß 22 und einen Signal-Anschluß (oder: Phase-Anschluß) 23 umfassen. An der Pipettenspitze bildet die Mikropipette 20 ein Ladevolumen 24, das gegebenenfalls in ein Trägervolumen 25 (s. unten) übergeht. Am entgegengesetzten Ende der Mikropipette ist eine Druckleitung 26 vorgesehen, deren Einzelheiten unten beschrieben werden.

Der Träger 30 besteht aus mindestens einem plattenförmigen Trägerelement, das mit Aufnahmen 32 (32a, 32b, ...) zur Anbringung der Mikropipetten 20 versehen ist. Außerdem sind am Träger 30 in zwei voneinander beabstandeten, elektrisch isolierten, im wesentlichen ebenen Bereichen, die bei dem dargestellten Beispiel durch die Oberflächen 31, 33 (oder Seitenflächen) des Trägerelements gebildet werden, mit Kontakten 34, 35 versehen, die jeweils einen Massekontakt 34 und einen Signalkontakt 35 umfassen. Die Masse- und Signalkontakte 34, 35 stehen jeweils entsprechend mit den Masse- und Signal-Anschlüssen 22, 23 der Piezoelemente 21 in elektrischer Verbindung. Schließlich können elektronische Bauelemente und Einrichtungen zu deren Befestigung und Verbindung am Träger vorgesehen sein. Hierzu ist der Träger vorzugsweise selbst eine Schaltungsplatte. Es kann insbesondere die komplette Versorgungs- und Multiplexelektronik auf dem Träger angebracht sein.

An jeder Aufnahme 32 des Trägerelements 31 ist eine Befestigungseinrichtung zur Halterung der Mikropipette 20 vorgesehen. Die Befestigung erfolgt vorzugsweise lösbar, um einzelne Mikropipetten austauschen zu können. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird die Befestigungseinrichtung selbst durch die Masse- und Signalkontakte 34, 35 gebildet, falls diese Federelemente sind, unter deren Wirkung die Mikropipetten 20 mit dem Piezoelement 21 in der Aufnahme 32 festgehalten werden.

Die Anordnung der Mikropipetten auf dem gemeinsamen

Träger erlaubt es, daß der Abstand zwischen den Mikropipettenspitzen so gering wird (z. B. 4,5 mm oder 9 mm), daß eine unmittelbare Substanzaufnahme aus üblicherweise verwendeten Mikrotiterplatten simultan für alle Mikropipetten eines Dispensierkopfes möglich ist. Die Anbringung der Masse- und Signalkontakte 34, 35 auf zwei getrennten Ebenen erlaubt ferner eine kreuzungsfreie, reihen- oder spaltenweise Verbindung von Kontakten, wie dies im folgenden unter Bezug auf die Fig. 2 und 3 erläutert wird.

Gemäß einer ersten Ausführungsform der Erfindung werden die Mikropipetten als lineare Reihe seitlich an einem gemeinsamen flachen Träger angebracht. Fig. 2 zeigt ein Beispiel für die Kontaktierung einer (nicht dargestellten) Platine (Platinenlayout), wie sie als ein Träger 30 realisiert sein kann. Fig. 2 zeigt zwei Kontaktreihen 34, 35, die auf der Seitenfläche einer Trägerplatine vorgesehen sind und jeweils eine Vielzahl von Durchgangslöchern 341, 351 aufweisen, die zur Aufnahme von federnden Lötösen eingerichtet sind und die mit entsprechenden Aufnahmeöffnungen auf der Trägerplatine (entsprechend den Aufnahmen 32 in Fig. 1) ausgerichtet sind. Die Mikropipetten verlaufen hier parallel zur Ebene des Trägers.

Gemäß einem wichtigen Merkmal der Erfindung sind die Kontakte einer der Kontaktreihen miteinander elektrisch verbunden. Beim dargestellten Beispiel sind die Massekontakte 34 miteinander verbunden, während die Signalkontakte 35 voneinander getrennt und einzeln ansteuerbar sind. Über ein übliches Anschlußteil 36, dessen Einzelheiten nicht dargestellt sind, sind der gemeinsame Massekontakt 34 mit dem Masse-Anschluß einer Hochspannungs-Versorgungseinrichtung zur Ansteuerung der Piezoelemente und die einzelnen Steuerkontakte 35 über eine Multiplexschaltung mit einem Phase- oder Signal-Anschluß der Hochspannungs-Versorgungseinrichtung verbunden.

Das Bezugszeichen 37 weist auf eine Halterungseinrichtung hin, mit der mehrere Mikropipettenreihen miteinander verbunden werden, um so eine Mikropipettenmatrix zu bilden. Dies wird dadurch erleichtert, daß die Reihenanordnung einen flachen Aufbau ermöglicht, so daß die Mikropipetten auch in Spaltenrichtung mit einem genügend geringen Abstand angeordnet werden können.

Eine alternative Gestaltung eines Trägers 30 für eine matrixartige, zweidimensionale Mikropipettenanordnung gemäß der zweiten Ausführungsform der Erfindung ist in Fig. 3 (auseinandergezogene Darstellung) dargestellt. Der Träger 30 umfaßt drei Trägerteilelemente bestehend aus einer Grundplatte 311, einer Führungsplatte 312 und einer Deckplatte 313. Jedes der Trägerteilelemente ist jeweils entsprechend mit Aufnahmen 321, 322 und 323 versehen, die im zusammengesetzten Zustand der Trägerteilelemente zueinander ausgerichtet und zur Halterung jeweils einer Mikropipette eingerichtet sind. In jeder der Aufnahmen 321 bzw. 323 der Grundplatte 311 bzw. 313 befindet sich ein elektrischer Kontakt 34 bzw. 35. Die Kontakte 34 (beispielsweise: Massekontakte 34) sind somit in der Ebene der Grundplatte 311 mit Abstand von den Kontakten 35 (hier: Signalkontakte) in der Ebene der Deckplatte 313 angeordnet. Die Massekontakte 34 sind durch einen ersten Kontaktkamm 341 reihenweise miteinander verbunden. Hierzu sind Kontaktstege 341a, 341b, ... vorgesehen, die sich entlang der Reihen erstrecken und jeweils mit jedem der in der entsprechenden Reihe befindlichen Kontakte 34 verbunden sind. Für die zweite Kontaktgruppe 35 ist entsprechend ein zweiter Kontaktkamm 351 bestehend aus Kontaktstegen 351a, 351b, ... vorgesehen, der die Kontakte spaltenweise miteinander verbindet. Spaltenweise bedeutet hier, daß die Kontakte 35 in linearen Spalten jeweils untereinander verbunden werden, die senkrecht oder schräg zur den linearen Reihen

verlaufen, in denen die Kontakte 34 miteinander verbunden sind. Die Kontaktkämme 341, 351 sind mit Multiplex-Schaltungen (nicht dargestellt) verbunden, deren Funktion unten erläutert wird.

Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 3 übernehmen die Kontakte 34, 35 wiederum die Funktion von Befestigungseinrichtungen. Die Kontakte sind jeweils in den Aufnahmen federnd so angeordnet, daß der Querschnitt der Aufnahme verringert wird und ein in der Aufnahme befindliches Piezoelement einer mechanischen Spannung ausgesetzt ist. Die Dicke der Führungsplatte 312 wird entsprechend der konkreten Piezoelement-Bauform so gewählt, daß die Kontakte 34 bzw. 35 jeweils mit den Masse- und Signalanschlüssen der Piezoelemente Kontakt erhalten, wie diese in Fig. 4 gezeigt sind.

Fig. 4 zeigt Einzelheiten eines kommerziell verfügbaren Piezoelements 21 mit Steueranschlüssen 22, 23. Bei Anlegen eines Steuersignals (Hochspannung im Bereich von rd. 30 V bis 200 V) erfolgt eine Verformung des Piezoelements derart, daß sich das mit dem Inneren der Mikropipette befindliche Volumen verringert, so daß von der Mikropipettenspitze ein Mikrotropfen abgegeben wird. Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 2 ist jeder Steueranschluß über eine Lötöse 27, die in die jeweilige Aufnahme am Träger ragt, mit den jeweiligen Kontakten im Träger verbunden. Bei der Ausführungsform gemäß Fig. 3 kann auf die Lötöse verzichtet werden, da die Kontakte 34, 35 in den Ausnehmungen 321 bzw. 323 den direkten Kontakt mit den Steueranschlüssen 22, 23 herstellen.

Der oben beschriebene Aufbau des erfindungsgemäßen Mehrkanal-Dispensierkopfes erlaubt eine vereinfachte elektronische Steuerung durch Einsatz der Multiplex-Technik. Um auch die Handhabung des Dispensierkopfes durch Reduzierung der Zahl der elektrischen Steuerleitungen von ortsfesten Steuer- und Versorgungseinrichtungen zu vereinfachen, sind je nach Ausführungsform eine erste Multiplexschaltung 40 und/oder eine zweite Multiplexschaltung 50 mit am Dispensierkopf 10 angebracht. Die Multiplexschaltung 40 ist zur Verteilung von Phasen- oder Steuerimpulsen oder -signalen auf die Piezoelementsteueranschlüsse von einzelnen oder spaltenförmig angeordneten Mikropipetten vorgesehen. Die zweite Multiplexschaltung 50 ist dementsprechend zur Verteilung von Massepotentialen an die Piezoelement-Masseanschlüsse von reihenweise angeordneten Mikropipetten vorgesehen. Fig. 5 zeigt schematisch ein Blockschaltbild der ortsfesten Steuereinrichtung 60 (beispielsweise ein Computer), der ortsfesten oder mit dem Träger beweglichen Versorgungseinrichtung 70 und des in Bezug auf diese mit einer x-y-z-Stelleinrichtung (nicht dargestellt) beweglichen Dispensierkopf 10 (gestrichelt umrahmt). Die Darstellung macht einen wichtigen Vorteil der Erfindung deutlich, daß nämlich neben den zwei Leitungen 74, 75 zur Piezoelementansteuerung lediglich zwei weitere Leitungen 62, 63 zur Ansteuerung der Multiplexschaltungen 40, 50 zwischen dem beweglichen Dispensierkopf 10 und den ortsfesten Laborsystemen vorgesehen sind.

Die Steuereinrichtung 60 dient der automatischen Steuerung des gesamten Mikropipetzierungssystems, insbesondere der Dispensierkopfpositionierung und der zeitlichen Mikrotropfenabgabe. Hierzu wird beispielsweise ein Computer mit einer zusätzlichen Timer-Counter-Karte, einem Digital-Analog-Wandler (z. B. National Instruments PC-A-02DC) und mehreren Digital-Ausgängen für die Steuerbus-Leitungen (z. B. National Instruments PC-DIO-96) versehen. Die Timer-Counter-Karte (z. B. PCL mit AM 9513-Baustein) wird zur Erzeugung der je nach Anwendungsfall erforderlichen Piezoiimpulsgröße (TTL-Impulse zur Hochspannungssteuerung) und der Tropfenfrequenz programmiert. Über

den Digital-Analog-Wandler in der Steuereinrichtung 60 kann die Ausgangsspannung der Hochspannungsquelle 71 der Versorgungseinrichtung 70 variiert werden. Diese Variationsmöglichkeit ist vorteilhaft, um die Parameter der Versorgungseinrichtung 70 an die Kenngrößen der Mikropipetten des jeweils verwendeten Dispensierkopfes und gegebenenfalls an die zu dispensierenden Lösungen anzupassen. Die jeweiligen Kenngrößen (Pulsspannung, Pulslänge, Tropfenfrequenz usw.) werden von der Steuereinrichtung 60 verwaltet und in Datenbanken gespeichert.

Die Steuereinrichtung 60 ist über einen x-y-Steuerbus 61 mit den Multiplexerschaltungen 40 und 50 verbunden. Außerdem besteht eine Verbindung mit der Versorgungseinrichtung 70 über die Spannungseinstelleitung 64 und die Impulsleitung 65 zur Pulsweiten- und Frequenz-Steuerung der Versorgungseinrichtung 70.

Fig. 6 zeigt Einzelheiten der Versorgungseinrichtung 70, die aus einer Hochspannungsquelle 71 und einer Pulsformungsschaltung 72 besteht. Die Leitungen 64 bzw. 65 von der Steuereinrichtung 60 sind jeweils entsprechend mit den Schaltungen 71 bzw. 72 verbunden. Von der Versorgungseinrichtung 70 führt dann eine Steuerleitung 74 und eine Masseleitung 75 zum Dispensierkopf 10. Über die Steuerleitung 74 wird ein Hochspannungspuls als Steuersignal für die Piezoelemente der Mikropipetten übertragen. Die Hochspannungs-Steuereinheit 71 besteht aus einem kommerziell erhältlichen Linearspannungsverstärker. Die Pulsformungsschaltung 72 ist eine schnell schaltende, flankenpräzise Hochspannungsschaltstufe, die vom TTL-Puls der Steuereinrichtung 60 gesteuert wird.

Einzelheiten der Multiplex-Schaltung 40 und deren Zusammenwirken mit der Steuereinrichtung 60 und der Versorgungseinrichtung 70 werden im folgenden unter Bezug auf das erste Ausführungsbeispiel gemäß Fig. 2 mit 16 Mikropipetten erläutert. Bei dem ersten Ausführungsbeispiel ist eine Gruppe von Mikropipetten reihenförmig angeordnet, wobei alle Massenkontakte 34 der Mikropipetten elektrisch miteinander verbunden sind. Eine Multiplexerschaltung 50 gemäß Fig. 5 ist in diesem Fall somit nicht vorgesehen. Die im folgenden unter Bezug auf die Fig. 7 und 8 erläuterten Einzelheiten können jedoch in analoger Weise auf die zweite Ausführungsform mit einer matrixförmigen Mikropipettenanordnung gemäß Fig. 3 angewendet werden. Die Multiplexerschaltung 50 besitzt dann grundsätzlich denselben Aufbau und dieselben Funktionen wie die Multiplexerschaltung 40, dies jedoch in Bezug auf die separate Ansteuerung der Massekontakte miteinander verbundener Reihen.

Die Multiplexerschaltung 40 (s. Fig. 5) umfaßt einen Multiplexer 41, eine Anzeigeeinrichtung 42 und eine Schalteranordnung 43. Der Multiplexer 41 und die Anzeigeeinrichtung 42 sind in Fig. 7 gezeigt. Über den y-Steuerbus 62, der vom x-y-Steuerbus 61 abzweigt, erhält der Multiplexer 41 ein Selektionssignal, das festlegt, welcher der Signalkontakte 35 des Dispensierkopfes 10 mit dem Hochspannungspuls von der Versorgungseinrichtung 70 beaufschlagt werden soll. Der Multiplexer 41 ist beispielsweise ein digitaler Multiplexer vom Typ SN74LS4067. Daraufhin gibt der Multiplexer 41 über eine der 16 Multiplexerausgangsleitungen 64 ein Triggersignal aus, das an die Anzeigeeinrichtung 42 und die Schalteranordnung 43 angelegt wird. Die Anzeigeeinrichtung 42 ist lediglich ein Hilfsmittel zur Vereinfachung der Erkennbarkeit, welche Mikropipette des Dispensierkopfes gerade aktuell angesteuert wird. Zur Realisierung der Erfindung ist es nicht zwingend erforderlich, die Anzeigeeinrichtung 42 vorzuschicken.

Die Schalteranordnung 43, deren Einzelheiten in Fig. 8 gezeigt sind, wirkt wie eine Relaisgruppe bestehend aus einer Zahl der in der Reihe angeordneten Mikropipetten (z. B.

16) entsprechenden Schalteinheiten 431, . . . 4316. Jede der Schalteinheiten enthält als Schaltmittel eine Transistorschaltung, die bei Anlegen eines Triggersignals von einer der sechzehn Multiplexerausgangsleitungen 64 anspricht und den über die Signalleitung 74 gelieferte Hochspannungspuls an den Signalkontakt 35 des jeweils selektierten Piezoelements 21 weiterschaltet.

Durch das vom Multiplexer 41 gelieferte Triggersignal wird somit entschieden, welche Mikropipette (bzw. welches Piezoelement) mit dem Hochspannungspuls beaufschlagt wird. Obwohl bei der ersten Ausführungsform sämtliche Piezoelemente mit dem Massepotential fest verbunden sind, wird nur eine Mikropipette elektrisch versorgt und somit zur Mikrotropfenabgabe veranlaßt. Bei der zweiten Ausführungsform enthält die zweite Multiplexerschaltung 50 entsprechend einen Multiplexer 51, eine Anzeigeeinrichtung 52 und eine Schalteranordnung 53. Über den x-Steuerbus 63 wird ein Selektionssignal an den Multiplexer 51 geliefert, wodurch ausgewählt wird, welche der in Bezug auf die Massekontakte verbundenen Mikropipettenreihen mit der Masseleitung 75 von der Steuereinrichtung 70 verbunden werden soll. Der Multiplexer 51 liefert wiederum ein entsprechendes Triggersignal, auf das eine der Schalteinheiten der Schalteranordnung 53 das Massepotential auf die entsprechende Mikropipettenreihe durchschaltet. Durch das Zusammenwirken der Multiplexerschaltungen 40 und 50 wird genau eine Mikropipette elektrisch versorgt, die der Reihe und Spalte entspricht, die aktuell mit dem Hochspannungspuls bzw. dem Massepotential beaufschlagt werden. Beim in Fig. 5 dargestellten Beispiel ist dies die Mikropipette in der zweiten Spalte und zweiten Reihe.

Die Zahl der Schaltereinheiten 431, . . . 531, . . . in jeder Schalteranordnung 43, 53 wird an die jeweilige Reihen- und Spaltenzahl des Dispensierkopfes 10 angepaßt. So können beispielsweise bei einem Dispensierkopf mit 96 Mikropipetten für eine Mikrotiterplatte mit 96 Substanzreservoirs (Reservoirabstand rd. 9 mm) in der Schalteranordnung 43 acht Schalteinheiten und in der Schalteranordnung 53 zwölf Schalteinheiten vorgesehen sein. Die Schalteinheiten werden vorzugsweise von den Multiplexern optoisoliert, um das Übersprechen elektrischer Steuersignale zu vermeiden und um eine Verstärkung der Multiplexersignale zu erzielen. Hierzu sind für jede Schaltereinheit ein Optokoppler vorgesehen.

Fig. 9 zeigt ein weiteres Merkmal gemäß der Erfindung, mit dem die Handhabung eines Mehrkanal-Dispensierkopfes vereinfacht werden kann. Wie unter Bezug auf Fig. 1 angegeben, ist jede Mikropipette 20 mit einer Druckleitung 26 versehen. Die Druckleitungen 26 aller Mikropipetten sind mit einer Verteilereinrichtung 80 verbunden, die auch am Dispensierkopf 10 angebracht ist. Von der Verteilereinrichtung 80 führt eine Druckversorgungsleitung 81 zu einer ortsfesten Druckeinrichtung (nicht dargestellt), die die Druckeinrichtung ist dazu vorgesehen, Unter- bzw. Überdrucke zur Aufnahme von Trägerflüssigkeiten oder zu Reinigungszwecken oder eine Druckstabilisierung bereitzustellen, die von der Verteilervorrichtung 80 auf die Druckleitungen 26 (z. B. Gasdruckleitungen) übertragen werden.

Die Verteilereinrichtung 80 kann eine Mehrventilanordnung oder eine Verzweigungsanordnung sein. Bei der Mehrventilanordnung ist eine Ventilanzahl entsprechend der Zahl von Mikropipetten am Dispensierkopf vorgesehen. Die Mehrventilanordnung erlaubt die Druckansteuerung einzelner Mikropipetten für Beschickungs- oder Reinigungszwecke. Bei der Verzweigungsanordnung mündet die Druckversorgungsleitung 81 ohne Ventile in die Vielzahl von Druckleitungen 26. Beim Einsatz der Verzweigungsanordnung wird die Verfahrensweise zur Beschickung oder

Reinigung und zur Substanzaufnahme wie folgt realisiert. In einem ersten Schritt wird der Dispensierkopf zu einem Trägerflüssigkeitsreservoir **91** gefahren, so daß die Mikropipettenspitzen simultan in eine Trägerflüssigkeit eintauchen. Über die Druckversorgungsleitung **81** wird an alle Mikropipetten ein Unterdruck derart angelegt, daß die Trägerflüssigkeit in das Trägervolumen **25** jeder der Mikropipetten **20** eingesogen wird. Die Einführung der Trägerflüssigkeit erfolgt soweit, daß ein Füllstand bei der Höhe **H** oberhalb der jeweiligen Piezoelemente erreicht wird. Die Trägerflüssigkeit hat die Aufgabe, einen an den Piezoelementen gebildeten Druckpuls auf eine in die Mikropipettenspitze geladene Wirksubstanz im Ladevolumen **24** zur Abgabe von Mikrotropfen zu übertragen. Dadurch werden in vorteilhafter Weise die erforderlichen Wirksubstanzvolumina in dem Submikroliterbereich verringert.

In einem zweiten Schritt wird der Dispensierkopf **10** zu einer Mikrotiterplatte **92** gefahren und derart auf die Mikrotiterreservoirs oder -volumina **921, 922, 923** ... abgesenkt, daß die Mikropipettenspitzen in die Wirksubstanzen in den Reservoiren eintauchen. Durch erneutes Anlegen eines Unterdrucks über die Druckversorgungsleitung **81** wird die jeweilige Wirksubstanz in die Mikropipettenspitze in die Ladevolumina **24** gezogen. Durch geeignete Auswahl der Trägerflüssigkeit und der Lösungsmittels der Wirksubstanz wird eine Vermischung von beiden Flüssigkeiten vermieden.

Anschließend wird der Dispensierkopf **10** zum Reaktionssubstrat **93** gefahren, wo der beabsichtigte kombinatorische Reaktionsablauf durch gezieltes Positionieren von Mikrotropfen in den einzelnen Wirksubstanzen an vorbestimmten Orten auf dem Substrat **93** realisiert wird.

Der Vorteil dieser Verfahrensweise besteht darin, daß mit der Verzweigungsanordnung, die einen sehr einfachen Aufbau aufweist, positions- bzw. pipettenspezifisch am Dispensierkopf Wirksubstanzen aufgenommen werden, ohne daß einzelne Ventile betätigt werden müssen.

Der Dispensierkopf gemäß der Erfindung wird vorzugsweise bei biotechnologischen, gentechnischen oder chemisch-technologischen Verfahren eingesetzt. Die beschriebene Matrix mit senkrecht oder schräg zueinander verlaufenden Reihen kann auch durch eine andere zweidimensionale Anordnung ersetzt werden. Sind die Mikropipetten beispielsweise kreisförmig angeordnet, so erfolgt die Ansteuerung nicht über kartesische x-y-Koordinaten, sondern über Polarkoordinaten. Dann realisieren die Multiplexerschaltungen jeweils eine Radius- und Winkelauswahl.

Patentansprüche

1. Mehrkanal-Dispensierkopf (**10**) mit einer Vielzahl von Mikropipetten (**20**), die jeweils eine elektrisch betätigbare Auslöseeinrichtung (**21**) mit einem Masse- und einem Signalanschluß (**22, 23**) aufweisen, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Mikropipetten (**20**) als zweidimensionale Anordnung auf einem gemeinsamen Träger (**30**) angebracht sind, der für jede Mikropipette (**20**) eine Aufnahme (**32**) mit einem Masse- und einem Signalkontakt (**34, 35**) aufweist, wobei die Masse- und Signalkontakte am Träger voneinander beabstandet angeordnet sind.
2. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß Anspruch 1, bei der die Mikropipetten entlang einer ersten Dimension mehrere gerade oder kreisförmige Reihen bilden, wobei die Massekontakte (**34**) jeder Reihe untereinander elektrisch miteinander verbunden sind und jeder der Signalkontakte (**35**) mit einer ersten Multiplexerschaltung (**40**) verbunden und einzeln ansteuerbar ist.

3. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß Anspruch 2, bei der die Mikropipetten entlang einer zweiten Dimension mehrere Spalten bilden, die zu den Mikropipettenreihen mit verbundenen Massekontakten schräg oder senkrecht verlaufen, wobei die reihenweise verbundenen Massekontakte jeweils mit einer zweiten Multiplexerschaltung (**50**) verbunden und mit dieser einzeln ansteuerbar sind und wobei die Signalkontakte in den Mikropipettenspalten jeweils elektrisch miteinander verbunden sind und die spaltenweise verbundenen Signalkontakte jeweils mit der ersten Multiplexerschaltung (**40**) verbunden und einzeln ansteuerbar sind.

4. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß Anspruch 1, bei der die Mikropipetten matrixartig in zueinander senkrecht oder schräg verlaufenden Reihen und Spalten angeordnet sind, wobei die Massekontakte reihenweise und die Signalkontakte spaltenweise elektrisch verbunden sind und wobei die gemeinsamen Massekontakte jeder einzelnen Reihe und die gemeinsamen Signalkontakte jeder einzelnen Spalte jeweils entsprechend mit einer ersten bzw. zweiten Multiplexerschaltung (**40, 50**) verbunden und einzeln ansteuerbar sind.

5. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß Anspruch 4, bei der die Mikropipetten entsprechend einem Raster von Reservoiren einer Mikrotiterplatte angeordnet sind.

6. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Masse- und Signalkontakte (**34, 35**) Federelemente sind, die jeweils in die Aufnahmen (**32**) für die Mikropipetten hineinragen und Befestigungseinrichtungen für diese bilden.

7. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einem der Ansprüche 2 bis 6, bei der die Multiplexerschaltungen (**40, 50**) und eine Versorgungseinrichtung (**70**) am Dispensierkopf angebracht und mit diesem beweglich sind.

8. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einem der Ansprüche 2 bis 7, bei der die Multiplexerschaltungen (**40, 50**) jeweils einen Multiplexer (**41, 51**) und eine Schalteranordnung (**43, 53**) aufweisen, wobei jede Schalteranordnung (**43, 53**) eine Vielzahl von Schaltereinheiten jeweils entsprechend der Zahl der Reihen mit elektrisch verbundenen Massekontakten und der dazu schräg oder senkrecht verlaufenden Reihen mit elektrisch verbundenen Signalkontakten enthält.

9. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Mikropipetten (**20**) jeweils Druckleitungen (**26**) aufweisen, die über eine am Dispensierkopf befestigte Verteilereinrichtung (**80**) mit einer Druckversorgungsleitung (**81**) verbunden sind.

10. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß Anspruch 9, bei der die Verteilereinrichtung (**80**) eine Mehrventilanordnung oder eine Verzweigungsanordnung ist.

11. Mehrkanal-Dispensierkopf gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die elektrisch betätigbare Auslöseeinrichtung (**20**) ein Piezoelement oder eine Ventileinrichtung ist.

12. Verfahren zur Verwendung einer Mehrkanal-Dispensierkopfes gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, bei dem die Mikropipetten simultan mit einer Trägerflüssigkeit, die in jeder Mikropipette ein Trägervolumen (**25**) füllt, das von der Auslöseeinrichtung (**21**) bis zu einem Ladevolumen (**24**) an der Mikropipettenspitze reicht, und zur Druckübertragung von der Auslöseeinrichtung (**21**) zum Ladevolumen (**24**) eingerichtet ist, und anschließend mit verschiedenen Wirksubstanzen, die jeweils die Ladevolumen (**24**) füllen, beschickt werden.

13. Verfahren gemäß Anspruch 12, bei dem zur Be-

schickung der Ladevolumen (24) der Dispensierkopf so über eine matrixartige Anordnung von Wirksubstanzreservoirien gefahren wird, daß die Mikropipettenspitze simultan in die Wirksubstanzreservoirie eintauchen.

14. Verfahren gemäß Anspruch 12 oder 13, bei dem das Ladevolumen (24) eine Wirksubstanzmenge im Submikroliter-Bereich aufnimmt und wesentlich kleiner als das Trägervolumen (25) ist.

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

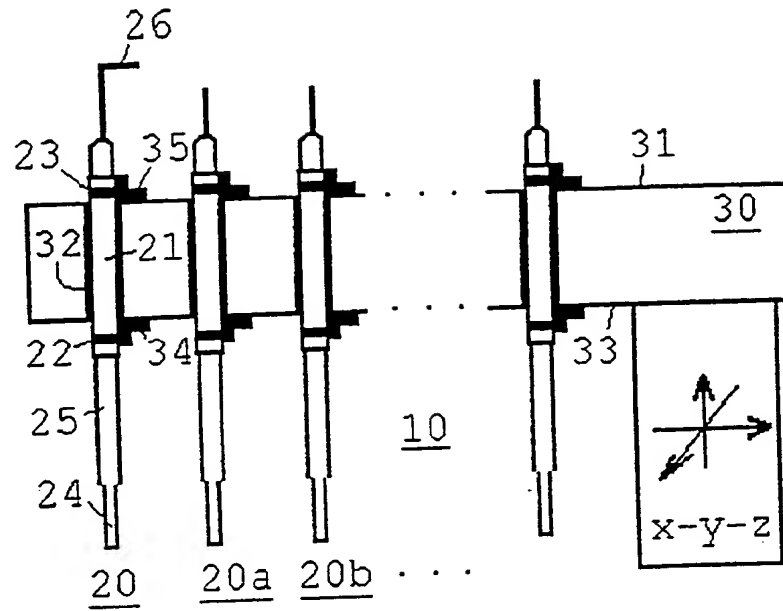


Fig. 1

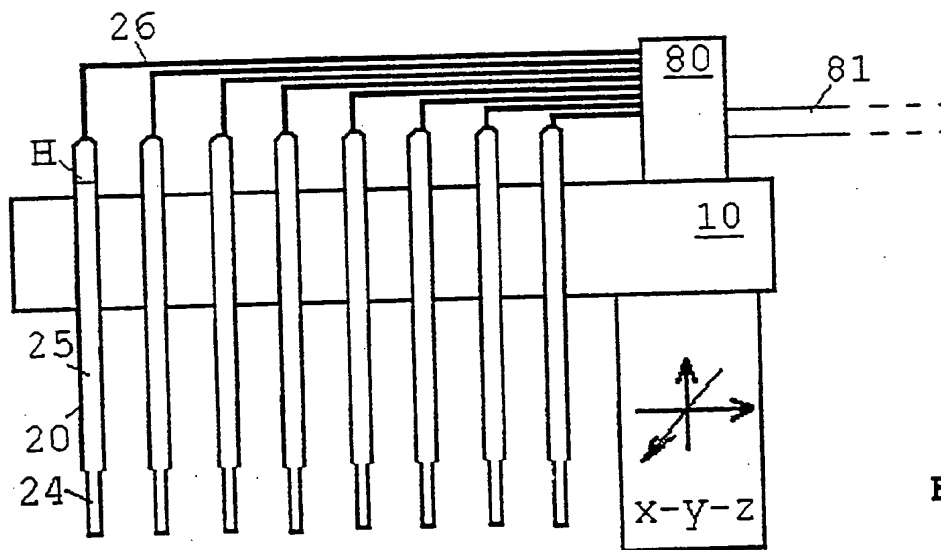
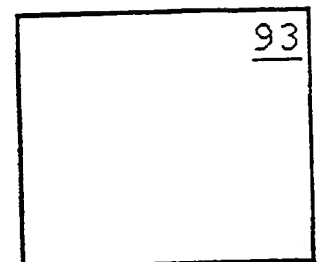
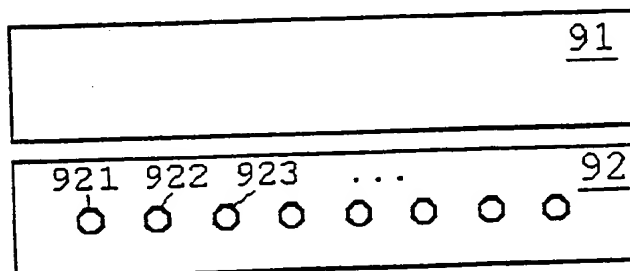
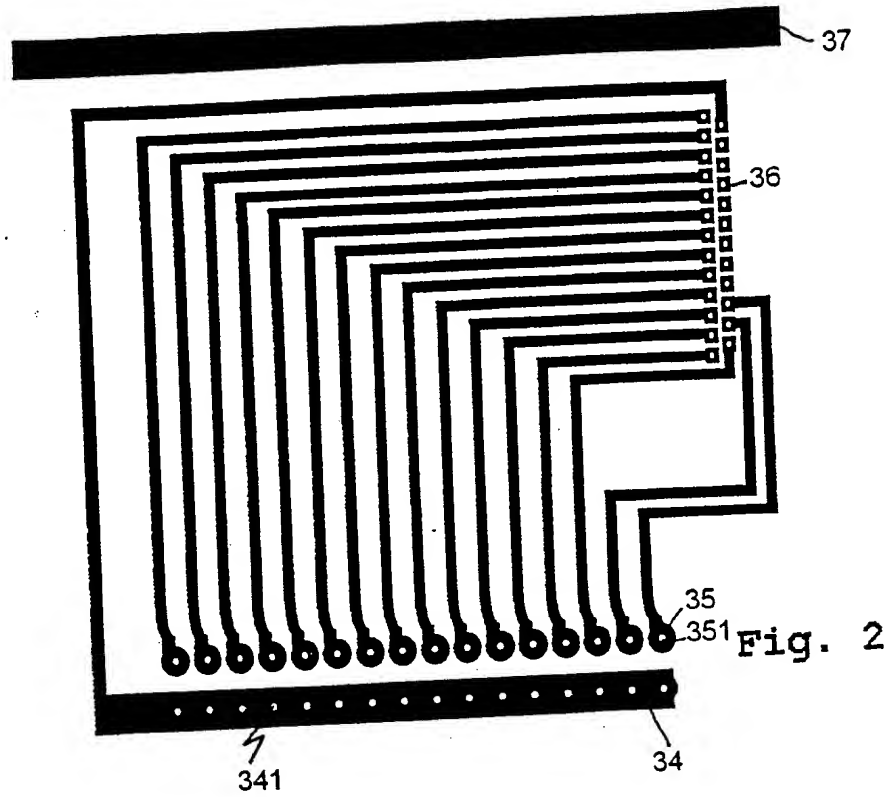


Fig. 9





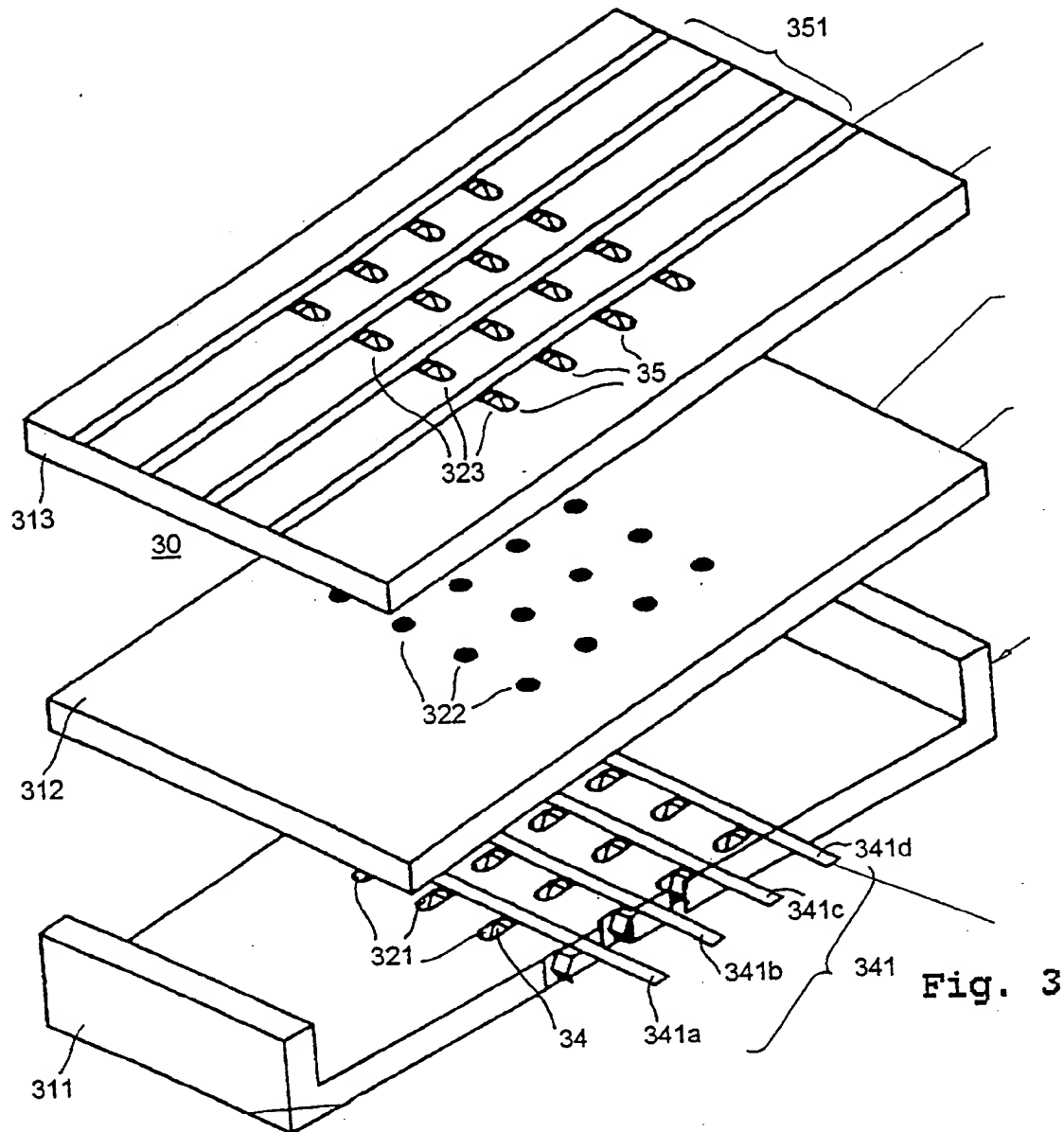


Fig. 3

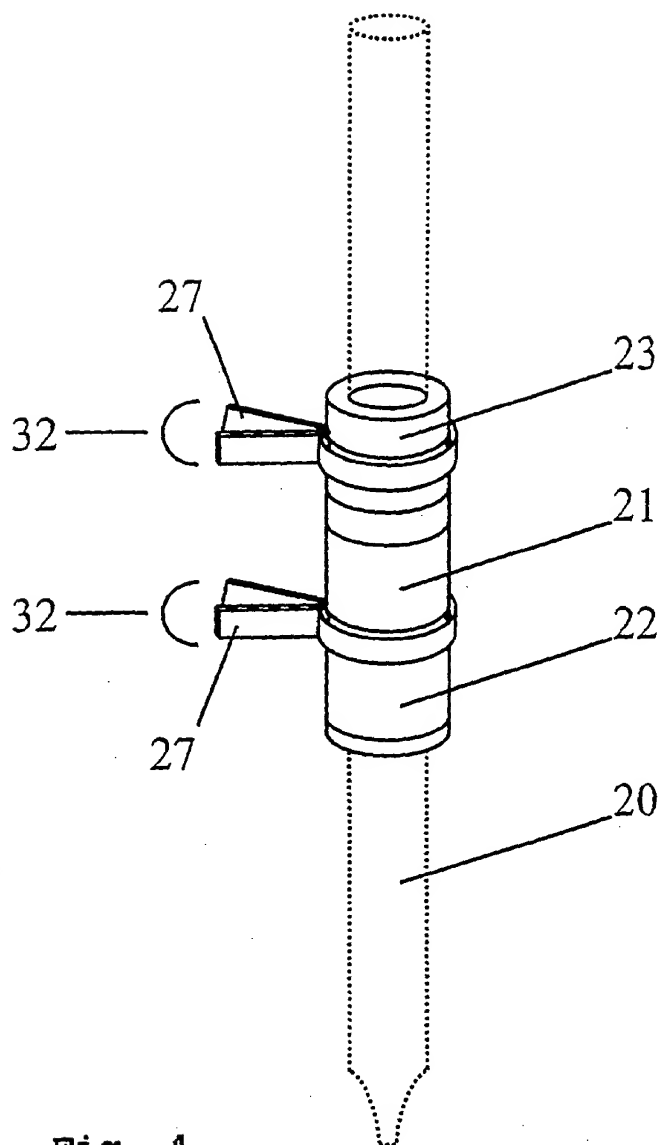


Fig. 4

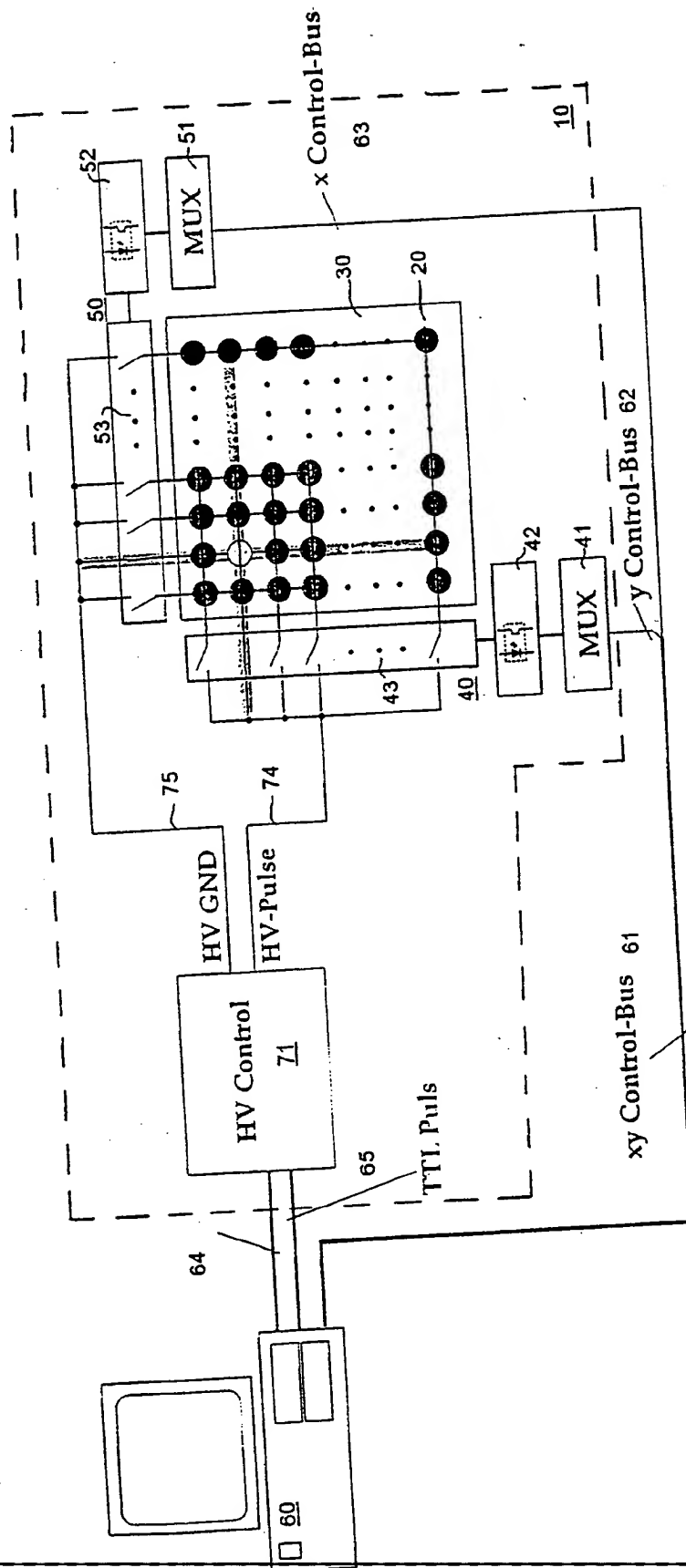


Fig. 5

